



[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>6</sup>

A61K 35/78

A61K 31/35 A61K 9/06

C07D311/30

## [12]发明专利申请公开说明书

[21]申请号 98104564.2

[43]公开日 1999年9月22日

[11]公开号 CN 1228968A

[22]申请日 98.3.17 [21]申请号 98104564.2

[74]专利代理机构 浙江工业大学专利事务所

[71]申请人 浙江农业大学

代理人 袁木棋 王政贵

地址 310029 浙江省杭州市凯旋路268号

[72]发明人 张英

权利要求书1页 说明书4页 附图页数0页

[54]发明名称 从竹叶中提取黄酮类化合物浸膏或粉剂的生产方法

[57]摘要

本发明属于一种从植物中提取黄酮类化合物,尤其是从竹叶中提取黄酮类化合物浸膏或粉剂的生产方法。以竹叶为原料,通过提取、浓缩、分离、精制、或再干燥所得的产品,含有大量的竹叶黄酮糖苷,及植物酚酸、蒽醌类、萜类内酯等化合物。该制剂具有优良的抗自由基、抗氧化、抗衰老和降血脂等作用,并带有典型的竹子芳香,可广泛地应用于各种老年功能性食品和医药保健品。该制剂是用低浓度的低级醇为溶剂热回流提取,用中级醇液~液萃取进行精制。生产过程安全、简便,无污染,易于控制,适于大规模的工业化生产,同时 还具有黄酮提取率高、纯度好等特点。

ISSN1008-4274

## 权利要求书

---

1、从竹叶中提取黄酮类化合物浸膏或粉剂的生产方法，其特征是：以竹叶为原料，将竹叶洗净、烘干、破碎，用较低浓度（20-40%，体积百分浓度）的低级醇（甲醇或乙醇）为溶剂，以1：10-15的固液比（重量百分比）热回流提取1-2小时，提取液浓缩后物理去杂，再用中级醇（丁醇或戊醇）液-液萃取，萃取液减压浓缩回收溶剂后，加少量水转溶，成黄酮类化合物浸膏，或再经真空或喷雾干燥，即制得黄酮类化合物粉剂。

## 说 明 书

### 从竹叶中提取黄酮类化合物浸膏或粉剂的生产方法

本发明涉及一种从植物中提取黄酮类化合物的生产方法，尤其是从竹叶中提取黄酮类化合物浸膏或粉剂的生产方法。

生物黄酮广泛存在于植物界，是许多中草药的有效成分。除了从银杏叶、法国松树皮、日本杜仲中提取黄酮类制剂以外，葛根、甘草、山楂、茶叶、柿叶、马尾松针及松实、桂皮、合欢皮、枸杞根皮茎叶、石斛、虫草、首乌、桔皮、五味子、枣、花生壳、稻根、茄杆等内含的生物黄酮均具有开发价值。以当今生产和使用规模最大的银杏黄酮为例，其生产工艺大致为以下3种类型：

(1) 水蒸汽蒸馏法：将银杏叶干燥、粉碎后，100～120℃水蒸汽蒸馏，蒸馏液冷却后，用非极性大孔树脂(或其他吸附剂)吸附，然后用乙醇洗脱，蒸干即得粉状结晶。该方法设备简单，但提取率低，现已很少采用。

(2) 有机溶剂萃取：这是目前国内外使用最广泛的方法，其提取工艺的专利也较多[从银杏叶中提取黄酮类化合物的方法，李兆龙，中草药，1992，14(6)：5-6]，可归纳为两种形式。一种是制备粗提物：把银杏叶干燥、粉碎后用有机溶剂(如乙醇或丙酮)提取，过滤、减压浓缩回收溶剂后，即得银杏浸膏。这种方法生产设备简单，产品得率高(约12～14%)，但含大量的杂质，通常呈棕黑色，制品的总黄酮含量为7～10%。另一种是制备精提物：这类方法通常在粗提物的基础上进一步精制，常用的精制方法有：液～液萃取(例如用二氯甲烷、氯仿、石油醚或苯脱脂；或用丁酮、丙酮—丁酮或乙酸乙酯萃取)，沉淀法(用氨水或氢氧化铝沉淀)和吸附～解析法(用大孔树脂、硅藻土或硅胶等吸附剂吸附，乙醇洗脱)。再通过无水硫酸钠干燥、过滤、减压蒸馏除去溶剂后，即可得精提物。一般为黄褐色粉末，得率约1～3%，总黄酮含量约为20～26%。

(3) 超临界流体萃取：近10年来，用该技术提取天然植物中的药用有效成分越来越受到关注，它和上述工艺相比，具有提取效率高、无溶剂残留、活性成分不易被分解和破坏等优点。欧洲专利EP0308675(1988)报道了用超临界CO<sub>2</sub>提取银杏叶中有效成分的方法，国内近年来也在这方面做了不少工作，但大多处在实验室研究阶段，未见有工业化应用的报道。

竹子是禾本科(Poaceae)竹亚科(Bambusoideae)多年生常绿植物，是一种大众化的药、食两用植物。竹子在东南亚广为分布，我国是世界竹子的中心产区之一，现有竹种300多种，竹林面积6000多万亩。竹子的医疗保健作用早已为我国劳动人民所认识，《本草求真》曰：“竹叶据书载，凉心缓脾、清痰止渴，为治上焦风邪烦热、咳逆喘促、呕哕吐血、一切中风惊痫等症，无非因其轻能解上、辛能散郁、甘能缓脾、凉能入心、寒能疗热故耳”。淡竹叶和淡竹沥就是中医一味传统的清热解毒药。竹子全身是宝，是当今世界最具有使用价

值的植物之一。但在竹子的综合利用中，竹叶的研究和开发利用明显滞后，除极少量的药用和食用以外，基本上处于原始状态。近年来，发明人对竹叶的有效成分及其生物活性进行了系统的研究，发现竹叶中含有丰富的黄酮等酚性化合物、蒽醌类化合物、萜类内酯、免疫活性多糖、特种氨基酸( $\delta$ -羟基赖氨酸)和锰、锌、铁、硒等微量元素，其中黄酮类化合物是其主要的功能成分。竹叶所含的黄酮类化合物基本上都是黄酮糖苷，相当部分是碳苷黄酮，如荭草苷木糖苷、异荭草苷、4'-甲氧基-牡荆苷等。

研究表明，竹叶提取物(Eb1)具有优良的抗自由基、抗氧化和抗衰老活性。大量的研究表明，Eb1具有很强的清除活性氧自由基和阻断亚硝化反应的能力；能显著诱导老龄小鼠内源性抗氧化酶系(SOD 和 GSH-Px)的活力、抑制脂质过氧化和清除过氧化产物；能显著增强小鼠的抗疲劳和抗应激能力；Eb1能显著降低大鼠血甘油三酯和总胆固醇的浓度，增加HDL-胆固醇浓度、降低LDL-胆固醇浓度，抑制大鼠体重的增加。动物试验的结果表明，Eb1降低血脂与诱导内源性SOD活力的作用与银杏叶提取物(Egb)相同，抑制脂质过氧化和诱导GSH-Px活力的作用明显优于Egb。此外，尚未从竹叶中检出有害成分或抗营养因子。急性毒性试验表明，Eb1经口的 $LD_{50} > 10g/kg$  体重，可视为实际无毒；Ames试验表明，Eb1无致突变性。所以说，Eb1是一种安全高效的生物黄酮保健因子，可广泛应用于功能性食品和多种老年退行性疾病的防治。

本发明的目的在于利用我国资源十分丰富、且尚未得到有效开发利用的竹叶，提供一种工艺简便、提取率高，过程易控制、无污染、适合于大规模工业化生产的从竹叶中提取黄酮类化合物浸膏或粉剂的生产方法。

从竹叶中提取黄酮类化合物浸膏或粉剂的生产方法，其特征是：以竹叶为原料，将竹叶洗净、烘干、破碎，用较低浓度(20-40%，体积百分浓度)的低级醇(甲醇或乙醇)为溶剂，以1：10-15的固液比(重量百分比)热回流提取1-2小时，提取液浓缩后物理去杂，再用中级醇(丁醇或戊醇)液-液萃取，萃取液减压浓缩回收溶剂后，加少量水转溶，成黄酮类化合物浸膏，或再经真空或喷雾干燥，即制得黄酮类化合物粉剂。

本发明是这样实现的：

竹叶 → 洗净 → 烘干 → 破碎 → 乙醇～水溶液热回流提取 → 过滤 → 减压浓缩 → 静止絮凝 → 分离去杂 → 正丁醇分步萃取 → 减压浓缩回收溶剂 → 热水转溶 → 减压浓缩 → (浸膏) → 真空或喷雾干燥 → 竹叶黄酮粉剂

该发明的技术要点是根据竹叶黄酮类化合物的组成特点和理化特性(良好的亲水性和热稳定性)、采用乙醇水溶液一次性热回流提取；根据杂质在一定条件下的絮凝和沉淀特性，用物理方法分离去杂；然后用正丁醇分步萃取，回收溶剂，经水转溶后得浸膏，再干燥即得粉剂。工艺简捷，易于控制；设备投入少，分离效果好，提取率高；无有机溶剂残留，成品质量好；整个过程不使用有毒、

有害试剂和强酸强碱，基本上无“三废”排放，不构成环境污染。本发明工艺适用于连续大批量生产。

本发明使长期废弃的竹叶得到了深度开发，既实现了竹子的整株利用，又为社会提供了一种来源广阔、优质廉价的生物黄酮新资源，对人类的衰老、肿瘤和心血管病等退型性疾病的预防和治疗具有重要意义。

竹叶总黄酮制备的工艺要点如下：

(1) 竹叶原料可以是散生竹或丛生竹的干青叶，以刚竹属的种类(如毛金竹、桂竹、毛竹、哺鸡竹、早园竹、高节竹、紫竹、斑竹等)为佳，理想的采收期是秋冬季(9～12月)。

(2) 一次性热回流提取。取干青叶的碎片，用1：10～15料液比、20～40%浓度的乙醇溶液)热回流提取1～2hr，周期短、设备占用率低、提取较完全。鉴于竹叶原料的广泛性和低廉的价格，该一次性提取法是最经济、合理的方法。

(3) 物理法去杂。竹叶提取液浓缩到1：1体积左右(即1kg干叶得1kg左右的浓缩液)，在自然降温的静止过程中，内含的大分子杂质和部分多酚类成分发生絮凝，自然沉降，用离心分离、压滤或真空抽滤的方法除去，具有良好的澄清效果。该物理去杂法较之常规的醇沉或其他化学方法澄清，大大节省了生产成本，并且避免了化学试剂对提取物质量可能带来的不良影响。

(4) 竹叶黄酮的精制采用正丁醇液～液萃取法。由于正丁醇对竹叶黄酮糖甙有很好的溶解性和选择性，加之其沸点较高、在室温下不易挥发，比重小、易于分离和回收，且无毒、无害。用正丁醇进行有效次数的萃取，黄酮提取率高，成品色泽金黄。

(5) 正丁醇萃取液经过减压浓缩、回收溶剂后，提取物再用少量的热水转溶成黄酮类化合物浸膏，再经真空干燥或喷雾干燥即得黄酮类化合物粉剂。

用本发明的技术制备的竹叶黄酮类化合物粉剂为黄色粉末或黄色结晶颗粒，带有明显的竹叶芳香，总黄酮含量在24～30%，绝大部分是黄酮糖甙，其中含相当数量的碳苷黄酮，如荭草苷木糖苷、异荭草苷和4'-甲氧基-牡荆苷等。其他成分还有植物酚酸、蒽醌、萜类内酯、含氮化合物、可溶性糖和矿物质等。

实施例1：毛金竹(*Phyllostachy nigra* var. *henonis* (Bean) Staph ex Rendle)的干青叶1kg，用破碎机破碎成10目左右的粗片后放入20L的提取罐中，加入30%的乙醇12kg，浸泡1hr，加热回流1.5hr。粗提液(约10kg)经过滤后入真空浓缩器中减压浓缩(同时回收溶剂)，浓缩至体积为1L左右时出料，静止8hr，真空抽滤去除杂质，清液用同体积的正丁醇萃取三次(正丁醇预先用水饱和，40～50℃保温萃取、每次搅拌0.5～1hr)，合并正丁醇相入真空浓缩器中减压浓缩回收溶剂，提取物用热水转溶，减压浓缩至一定浓度后成浸膏，或再经喷雾干燥得25g黄色粉末，其总黄酮含量为28%。

实施例2：2kg桂竹(*Phyllostachy bambusoides* Sieb. Et Zucc)的干青叶，破碎成10目左右的粗片放入50L的提取罐中，加入35%的乙醇30kg，浸泡

0.5hr, 加热回流 1hr, 提取液过滤后放入储罐中, 用真空浓缩器分批浓缩至最终体积约为 2L, 静止 6hr, 离心分离去除杂质, 清液用 2 倍体积的正丁醇萃取 2 次, 合并正丁醇相, 减压浓缩回收溶剂, 提取物经热水转溶后, 减压浓缩至比重大于 1.12 后成浸膏, 或再经真空干燥得 45g 黄色粉末, 总黄酮含量为 27.6%。